

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 พื้นที่ทำการทดลอง

ทำการทดลองในพื้นที่สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหิยะ และห้องปฏิบัติการ จุลินทรีย์ดิน ภาควิชาปฐพีศาสตร์และอนุรักษศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.2 ศึกษาการย่อยสลายของวัสดุอินทรีย์ในกระบวนการผลิตปุ๋ยหมัก

3.2.1 วิธีการผสมวัสดุเพื่อทำปุ๋ยหมัก

ผสมวัสดุเพื่อศึกษาการย่อยสลายวัสดุอินทรีย์ในกระบวนการผลิตปุ๋ยหมักโดยใช้วัสดุ 2 ชนิด คือ แกลบเป็นตัวแทนของวัสดุย่อยสลายยาก (C:N ratio > 100) และฟางข้าวเป็นตัวแทนของวัสดุย่อยสลายง่าย (C:N ratio < 100) โดยผสมวัสดุแกลบหรือฟางข้าว 250 กิโลกรัมร่วมกับมูลวัวให้มีส่วนผสมของวัสดุแกลบหรือฟางข้าวต่อมูลวัวในอัตราส่วน 5:1 แล้วปรับค่า C:N ratio ให้เท่ากับ 35:1 โดยปรับด้วยรำข้าว ซึ่งเป็นแหล่งของไนโตรเจนที่มีปริมาณสูงถึงประมาณ 2.8% และปุ๋ยยูเรีย ในสัดส่วนที่ให้ไนโตรเจนจากรำข้าว 100% และ 50% ร่วมกับไนโตรเจนจากปุ๋ยยูเรีย (ตารางที่ 1) เพื่อให้ C:N ratio เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยผสมวัสดุหมักตามอัตราส่วนให้เข้ากัน และปรับความชื้นโดยให้กองวัสดุที่หมักมีความชื้นประมาณ 60% โดยที่ให้มีขนาด ความกว้าง×ความยาว×ความสูง ของกองปุ๋ยประมาณ 1.0×1.5×0.7 เมตร ทำการหมักปุ๋ยไว้นาน 6 เดือน สำหรับวัสดุที่เป็นแกลบและ 4 เดือน สำหรับวัสดุที่เป็นฟางข้าว ในระหว่างกระบวนการหมักทำการกลับกองทุก 15 วันเพื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนให้แก่จุลินทรีย์ในการย่อยสลายวัสดุในกองปุ๋ยหมัก

3.2.2 การวางแผนการทดลอง

ทำการทดลองโดยวางแผนการทดลองแบบ split plot designed แต่ละวัสดุทำการทดลอง ดำรับละ 3 ซ้ำ 8 ดำรับการทดลอง ดังนี้
วัสดุแกลบ และวัสดุฟางข้าว

Main plot คือ จุลินทรีย์ช่วยย่อยสลายปุ๋ยหมัก (สารเร่ง พด.1)

M1 ไม่ใส่สารเร่ง พด.1

M2 ใส่สารเร่ง พด.1

Sub plot คือ การปรับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C:N ratio) ให้ได้ 35:1 โดยคำนวณ C และ N ที่มีในวัสดุเปรียบเทียบกับ C และ N ที่จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญเติบโต วิธีการคำนวณมีรายละเอียด ดังแสดงในภาคผนวก ก

S1 ไม่ใส่ปุ๋ยยูเรียและรำข้าว (Control)

S2 ปุ๋ยยูเรีย 100% เป็นแหล่ง N เพิ่มเติมจากที่มีในวัสดุ

S3 รำข้าว 100% เป็นแหล่ง N เพิ่มเติมจากที่มีในวัสดุ

S4 รำข้าว 50%+ยูเรีย 50%

ตารางที่ 1 สัดส่วนของวัสดุ : ปุ๋ยยูเรีย : รำข้าว ในการผลิตปุ๋ยหมัก

ดำเนินการทดลอง		ยูเรีย (กก.)	รำข้าว(กก.)
แกลบ	<u>ไม่ใส่สารเร่ง พ.ค.1</u>		
	ตำรับที่ 1 Control	0	0
	ตำรับที่ 2 ยูเรีย 100 %	5.67	0
	ตำรับที่ 3 รำข้าว 100%	0	93.21
	ตำรับที่ 4 ยูเรีย50% + รำข้าว 50%	2.84	46.61
	<u>ใส่สารเร่ง พ.ค.1</u>		
	ตำรับที่ 5 Control	0	0
	ตำรับที่ 6 ยูเรีย 100 %	5.67	0
ตำรับที่ 7 รำข้าว 100%	0	93.21	
ตำรับที่ 8 ยูเรีย50% + รำข้าว 50%	2.84	46.61	
ฟางข้าว	<u>ไม่ใส่สารเร่ง พ.ค.1</u>		
	ตำรับที่ 1 Control	0	0
	ตำรับที่ 2 ยูเรีย 100 %	4.05	0
	ตำรับที่ 3 รำข้าว 100%	0	66.57
	ตำรับที่ 4 ยูเรีย50% + รำข้าว 50%	2.03	33.29
	<u>ใส่สารเร่ง พ.ค.1</u>		
	ตำรับที่ 5 Control	0	0
	ตำรับที่ 6 ยูเรีย 100 %	4.05	0
ตำรับที่ 7 รำข้าว 100%	0	66.57	
ตำรับที่ 8 ยูเรีย50% + รำข้าว 50%	2.03	33.29	

3.2.3 การเก็บข้อมูลทางด้านคุณสมบัติของปุ๋ยหมัก

ในระหว่างกระบวนการหมักทำการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาการเปลี่ยนแปลงปริมาณ N, P, K, ค่า pH, EC, OM, การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์โดยวิเคราะห์ปริมาณการปลดปล่อย CO₂ (CO₂-evolution) การย่อยสลายสมบูรณ์ของปุ๋ยหมักโดยวิธีหาอัตราการงอกของเมล็ดผัก (Germination Index ; GI) และ C:N ratio ทุกๆ 30 วัน โดยในปุ๋ยหมักแกลบเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ค่าดังกล่าวรวม 6 ครั้ง และในปุ๋ยหมักฟางข้าวเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์รวมทั้งหมด 4 ครั้ง วิธีวิเคราะห์มีรายละเอียดโดยย่อดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 วิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติปุ๋ยหมัก

วิเคราะห์	วิธีการ	เอกสารอ้างอิง
pH	ปุ๋ยหมัก:น้ำ อัตราส่วน 1:10 วัดด้วย pH meter	กรมวิชาการเกษตร, 2541
EC	ปุ๋ยหมัก:น้ำ อัตราส่วน 1:10 วัดด้วยเครื่อง Conductivity meter	กรมวิชาการเกษตร, 2541
Organic matter (OM)	ชั่งตัวอย่างปุ๋ยหมักประมาณ 0.1000 กรัม เติม 1N K ₂ Cr ₂ O ₇ 10 มล. และ H ₂ SO ₄ 10 ml. เพื่อเร่งปฏิกิริยา ทิ้งไว้ข้ามคืน เติมน้ำกลั่น 100 มล. titrate ด้วย FeSO ₄ .7H ₂ O โดยใช้ O-phenanthroline ferrous 10 หยด เป็น indicator	กรมวิชาการเกษตร, 2541
Total N	ชั่งตัวอย่างปุ๋ยหมักประมาณ 0.2000 กรัม ใช้กรดซัลฟูริก เข้มข้นผสมsalicylic acid ย่อยจนละลาย เติม Sodiumthiosulfate และ Catalyst Mixture ย่อยต่อจนสารละลายใส แล้วนำไปกลั่น โดยใช้ Boric acid เป็นตัวรับ และtitrate ด้วย H ₂ SO ₄ เข้มข้น 0.02 N	กรมวิชาการเกษตร, 2541

วิเคราะห์	วิธีการ	เอกสารอ้างอิง
Total P	ชั่งตัวอย่างปุ๋ยหมักประมาณ 0.5000 กรัม เติม HClO ₄ 10 มล. ย่อยที่อุณหภูมิ 240°C จนใส กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 คูด สารละลายที่ได้ โดยให้เกิดปฏิกิริยากับ Molybdovanadate วัดด้วยเครื่อง UV- Spectrophometer ความยาวคลื่น 420 นา โนเมตร	กรมวิชาการเกษตร, 2541
Total K	ชั่งตัวอย่างปุ๋ยหมักประมาณ 0.5000 กรัม เติม HClO ₄ 10 มล. ย่อยที่อุณหภูมิ 240°C จนใส กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 คูด สารละลายที่ได้ วัดหาปริมาณด้วยเครื่อง โดย Flame Photometer	กรมวิชาการเกษตร, 2541
GI (Germination index)	ปุ๋ยหมัก:น้ำ อัตราส่วน 1:10 เขย่า 180 ครั้ง ต่อนาที นาน 1 ชั่วโมง กรองด้วย กระดาษ กรองเบอร์ 1 คูดสารละลาย 3 มล. มาเพาะ ทดสอบกับถั่วเขียว และผักกาด เพื่อทดสอบ การงอก	กรมวิชาการเกษตร, 2541
CO ₂ evolution	Incubate ปุ๋ยหมัก 1 สัปดาห์ โดยใช้ NaOH เป็นตัวจับ CO ₂ ในสภาพที่ไม่ให้อากาศผ่าน เข้า-ออก วิเคราะห์หาปริมาณ CO ₂ โดยเติม BaCl ₂ ลงใน NaOH และใช้ phenolphthalein เป็น indicator ไตเตรท ด้วย HCl 1 N	อำพรณ, 2547

3.3 ศึกษาการปลดปล่อยธาตุอาหารพืชของปุ๋ยหมักในกระบวนการ Mineralization

3.3.1 การบ่มตัวอย่างดินร่วมกับปุ๋ยหมัก

ดำเนินการทดลองโดยใช้วิธีบ่มดินในห้องปฏิบัติการ ในการบ่มดินแต่ละตัวอย่างใช้ตัวอย่างในอัตราส่วน 25.64 กรัม / ดิน 2 กิโลกรัม (ปุ๋ยหมักอัตราส่วน 4 ตัน / ไร่) ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากัน จากนั้นบ่มตัวอย่างไว้ในอุณหภูมิห้องโดยรักษาระดับความชื้นไว้ที่ 60% ของความชื้นที่ดินสามารถอุ้มไว้ได้ทั้งหมด (Water Holding Capacity ; WHC) โดยใช้วิธีการตรวจวัดหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของตัวอย่างดินทุกๆ 7 วัน โดยเปรียบเทียบน้ำหนักของดินก่อนอบและน้ำหนักแห้งของดินหลังอบ วิธีการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นมีรายละเอียด ดังนี้

$$\% \text{ ความชื้นของดิน} = \frac{\text{น้ำหนักดินก่อนอบ} - \text{น้ำหนักดินภายหลังอบ}}{\text{น้ำหนักดินภายหลังอบ}} \times 100$$

3.3.2 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomize Designed (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ 16 ดำรับการทดลอง ดังนี้

1. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักแกลบ ไม่ใส่เชื้อ พด 1.
2. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักแกลบ ไม่ใส่เชื้อ พด 1. + ยูเรีย 100%
3. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักแกลบ ไม่ใส่เชื้อ พด 1. + รำข้าว 100%
4. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักแกลบ ไม่ใส่เชื้อ พด 1. + รำข้าว 50% + ยูเรีย 50%
5. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักแกลบ ใส่เชื้อ พด 1.
6. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักแกลบ ใส่เชื้อ พด 1. + ยูเรีย 100%
7. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักแกลบ ใส่เชื้อ พด 1. + รำข้าว 100%
8. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักแกลบ ใส่เชื้อ พด 1. + รำข้าว 50% + ยูเรีย 50%
9. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักฟางข้าว ไม่ใส่เชื้อ พด 1.
10. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักฟางข้าว ไม่ใส่เชื้อ พด 1. + ยูเรีย 100%
11. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักฟางข้าว ไม่ใส่เชื้อ พด 1. + รำข้าว 100%
12. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักฟางข้าว ไม่ใส่เชื้อ พด 1. + รำข้าว 50% + ยูเรีย 50%
13. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักฟางข้าว ใส่เชื้อ พด 1.
14. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักฟางข้าว ใส่เชื้อ พด 1. + ยูเรีย 100%

15. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักฟางข้าว ใส่เชื้อ พด 1. + รำข้าว 100%
16. ดินหมักร่วมกับปุ๋ยหมักฟางข้าว ใส่เชื้อ พด 1. + รำข้าว 50% + ยูเรีย 50%

3.3.3 การปลดปล่อยธาตุอาหารพืชในดินที่บ่มร่วมกับปุ๋ยหมัก

ในระหว่างกระบวนการบ่มตัวอย่างดินทำการวิเคราะห์ตัวอย่างดินตลอดระยะเวลาการทดลอง โดยเก็บตัวอย่างทุก 7 วัน ในเดือนที่ 1 เก็บทุก 15 วัน เดือนที่ 2 และเก็บอีก 1 ครั้งเมื่อครบ 3 เดือน แต่ละครั้งทำการทดลองนำมาทดสอบและวิเคราะห์การปลดปล่อยสารอนินทรีย์ที่เป็นธาตุอาหารพืช โดยวิเคราะห์หาสมบัติทางเคมีบางประการของดิน ได้แก่ อนินทรีย์ไนโตรเจนในดิน ($\text{NH}_4^+ - \text{N}$ และ $\text{NO}_3^- - \text{N}$) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Available P) โพแทสเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้ในดิน (Exchangeable K) ค่า pH, EC และปริมาณ OM ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 วิธีการวิเคราะห์คุณสมบัติดิน

วิเคราะห์	วิธีการ	เอกสารอ้างอิง
pH	ดิน:น้ำ อัตราส่วน 1:1 วัดด้วย pH meter	Rhoades, 1982
EC	ดิน:น้ำ อัตราส่วน 1:5 วัดด้วยเครื่อง Conductivity meter	Rhoades, 1982
Organic matter	ชั่งตัวอย่างดินประมาณ 0.1-0.5 กรัม เติม 1N $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 10 มล. และ H_2SO_4 10 มล. เพื่อเร่งปฏิกิริยา ทิ้งไว้ข้ามคืน เติมน้ำกลั่น 100 ml titrate ด้วย $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ โดยใช้ O-phenanthroline ferrous 10 หยด เป็น indicator	Nelson and Sommers, 1996

วิเคราะห์	วิธีการ	เอกสารอ้างอิง
Mineralized- N	ชั่งตัวอย่างดิน 10 กรัม เติม KCl 2 M 100 มล. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ดูดตัวอย่างมาเติม MgO หา NH_4^+ -N และ Devarda's alloy เพื่อหา NO_3^- -N โดยการกลั่น	Mulvaney, 1996
Available P	ชั่งตัวอย่างดิน 2.5 กรัม สกัดด้วย Bray II 25 มล. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 ดูดสารละลายที่กรองได้ 1 มล. พัฒนาสีด้วย Ammonium molybdate, Antimony Potassium Tartrate, Ascorbic acid วัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 882 นาโนเมตร	Houba et al., 1988
Exchangeable K	ชั่งตัวอย่างดิน 2.5 กรัม สกัดด้วย NH_4OAc 1 M pH 7 จำนวน 25 มล. กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 ดูดสารละลายไปวัดหาปริมาณ K โดย Flame photometer	Helmke and Sparks, 1996

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่เก็บบันทึกได้นำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารในปุ๋ยหมักและการเปลี่ยนแปลงธาตุอาหารในดินโดยใช้ analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของสิ่งทดลองโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ค่าความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม Statistix for Window Version 8